生物质生物预处理研究进展与展望

秦梦彤，胡婧，李冠华**

（内蒙古大学生命科学学院，内蒙古呼和浩特　010020）

摘要：木质纤维素生物质分布广、产量大、可再生，用于制备生物基能源、生物基材料和生物基化学品。木质纤维素生物质组成复杂包含纤维素、半纤维素和木质素等，木质素与半纤维素通过共价键、氢键交联形成独特的“包裹结构”，纤维素含有复杂的分子内与分子间氢键，上述因素制约着其资源化利用。生物预处理以其独特优越性成为生物质研究的重要方面。本文系统阐述了生物预处理过程中木质素降解和基团修饰对纤维素酶解的影响，纤维素含量及结晶区变化，半纤维素五碳糖利用，微观物理结构的改变。进一步提出了以生物预处理为核心的组合预处理、基于不同功能的多酶协同催化体系、木质纤维素组分分级利用和新型高效细菌预处理工艺是生物预处理未来发展的重要趋势。

关键词：生物预处理；生物质；木质纤维素

Recent Developments and future prospect of Biological Pretreatment

QIN Meng-tong, HU Jing, LI Guan-hua**

(College of life sciences, Inner Mongolia University, Huhhot, Inner Mongolia 010020, China)

Abstract: Lignocellulosic biomass, a kind of renewable and widely distributed resource on earth, serves as a potential source for the production of bio-based energy, bio-based materials and bio-based chemicals. Resistance barrier is the major limitation in conversion of lignocellulosic biomass. The main components of lignocellulosic biomass are cellulose, hemicellulose and lignin. Lignin interacts with hemicellulose through hydrogen or covalent bonding, acting as a physical barrier that restricts the access of cellulose. Furthermore, there is a strong hydrogen bonding among crystalline cellulose. Though several pretreatments are available, biological pretreatment seems to be promising as an eco-friendly process and has been paid much attention by many researchers. This review evaluated the effects of biological pretreatment on cellulose, hemicellulose and lignin. The degradation and modification of lignin, variation of cellulose content and crystalline cellulose, production and

utilization of pentose from hemicelluloses, and microstructure changes during the biological pretreatment were systematically reviewed. In addition, the future prospect of combination pretreatments, multi-enzyme catalytic system, biomass component fractionation and utilization, and the efficient bacterial pretreatment were put forward.

Keywords: Biological pretreatment; Biomass; Lignocellulose

木质纤维素生物质是地球上最丰富的可再生资源，主要来自于农业和林业废弃物，富含纤维素、半纤维素和木质素[1]。利用木质纤维素生物质资源生产清洁能源和高附加值产品是当前研究热点。木质纤维素生物质组成复杂，木质素通过共价键、氢键和半纤维素相互作用包裹纤维素，纤维素结晶区整齐排列形成复杂的分子内与分子间氢键网络，木质素及其他小分子物质引起纤维素酶的无效吸附，上述因素构成了木质纤维素生物质的天然抗降解屏障，成为其资源化利用的主要瓶颈。预处理破坏木质素和半纤维素结构屏障，改变纤维素聚合度和结晶度，增加生物质多孔性和比表面积，是实现生物质高效利用的关键。生物预处理利用微生物代谢产酶或自身生理代谢改变生物质物理化学结构，包括微生物预处理和微生物酶法预处理。相对于物理、化学预处理技术，其具有作用条件温和、环境友好、能耗低、副产物少、糖损耗低、抑制物产生少等优点[2]。学者从生物预处理降解酶系、分子机制与调控、发酵条件优化等方面进行了综述。在此基础上论文从生物质三组分出发，重点讨论生物预处理过程中生物质组分、微观物理结构变化及其对纤维素利用的影响，结合最新研究对未来形势进行展望。

1 生物预处理概述

1939 年 Waksman 和 Cordon[3]首次利用微生物处理苜蓿，改变其化学成分，由此开始了生物预处理研究。生物预处理研究涵盖了微生物菌种的筛选，预处理过程的优化，协同酶解体系及非酶促氧化降解途径的解析，生物预处理同其他物理化学预处理协同体系的建立，生物预处理产物表征及高值化应用等多个方面。

预处理微生物主要包括白腐真菌和褐腐真菌，大多属于担子菌纲。白腐真菌营腐生生活，氧化降解木质素生成 CO_2 和 H_2O，降解后残渣呈浅色片状或线状结构，是促进森林生态系统的物质循环和能量流动、维持生物与非生物环境之间正常运转的重要参与者；褐腐真菌修饰或改性木质素，修饰后残渣呈褐色柔软块状或颗粒状结构。已报道预处理微生物主要来自白腐真菌，褐腐真菌以其独特

的降解机制越来越受到关注。

2 生物预处理对木质纤维素的作用机理

生物质主要有纤维素、半纤维素和木质素组成，改变上述成分理化性质是生物预处理的核心。白腐真菌分泌的胞外木质素降解酶，主要包括木质素过氧化物酶（Lignin peroxidase, LiP）、锰过氧化物酶（Manganese peroxidase, MnP）、漆酶（Laccase, Lac）、多功能过氧化酶（Versatile peroxidases,VP）等，结合自身产生 H_2O_2 触发一系列自由基链反应氧化降解木质素[4]。LiP 具有较高氧化还原电位，通过 H_2O_2 和藜芦醇协助催化降解非酚型木质素，断裂 Cα-Cβ键，氧化苄醇，引起羟基化、脱甲基、脱甲氧基、氧化性脱氯及酚二聚合等[5]。MnP 通过 Mn^{2+} 传递电子，将中间复合体Ⅰ（MnPⅠ）还原为复合体Ⅱ（MnPⅡ），自身也被氧化成为 Mn^{3+}，同时螯合真菌代谢产物有机酸，形成高氧化还原电位，进一步氧化断裂酚型木质素 Cα-Cβ、芳基-苯基键[6]。Lac 通过四次单电子转移氧化断裂酚类和芳香胺类化合物的 Cα-Cβ键，生成苯氧自由基，进而氧化 Cα并断裂醚键，最终形成氢醌和苯丙醇。Lac 氧化还原电位较低，需要介体参与完成非酚型木质素降解，参与介体不同催化氧化途径亦不同[7]。VP 仅有少数真菌可以分泌，具有 LiP 和 MnP 的功能，能同时氧化酚型和非酚型木质素。此外，乙二醛氧化酶、葡萄糖氧化酶和甲醇氧化酶也参与木质素降解，但作用机制尚不明确。预处理微生物分泌的胞外纤维素水解酶包括内切-1,4-β-葡聚糖酶（EG）、外切-1,4-β-葡聚糖酶（CBH）和β-葡萄糖苷酶（BGL）等。EG 切割纤维素非结晶部位产生新的末端，CBH 水解该末端，生成可溶性的纤维糊精、纤维二糖或其他低聚糖，最终由 BGL 分解生成葡萄糖[8]。纤维素降解机制，特别是纤维素结晶区的水解过程仍需要深入研究。半纤维素组成复杂，包含木糖、阿拉伯糖等，侧链分支较短，需多种水解酶协同作用。已报道的酶包括内切-1,4-β-木聚糖酶、木聚糖酯酶、阿魏酸酯酶，相关研究较少[9]。

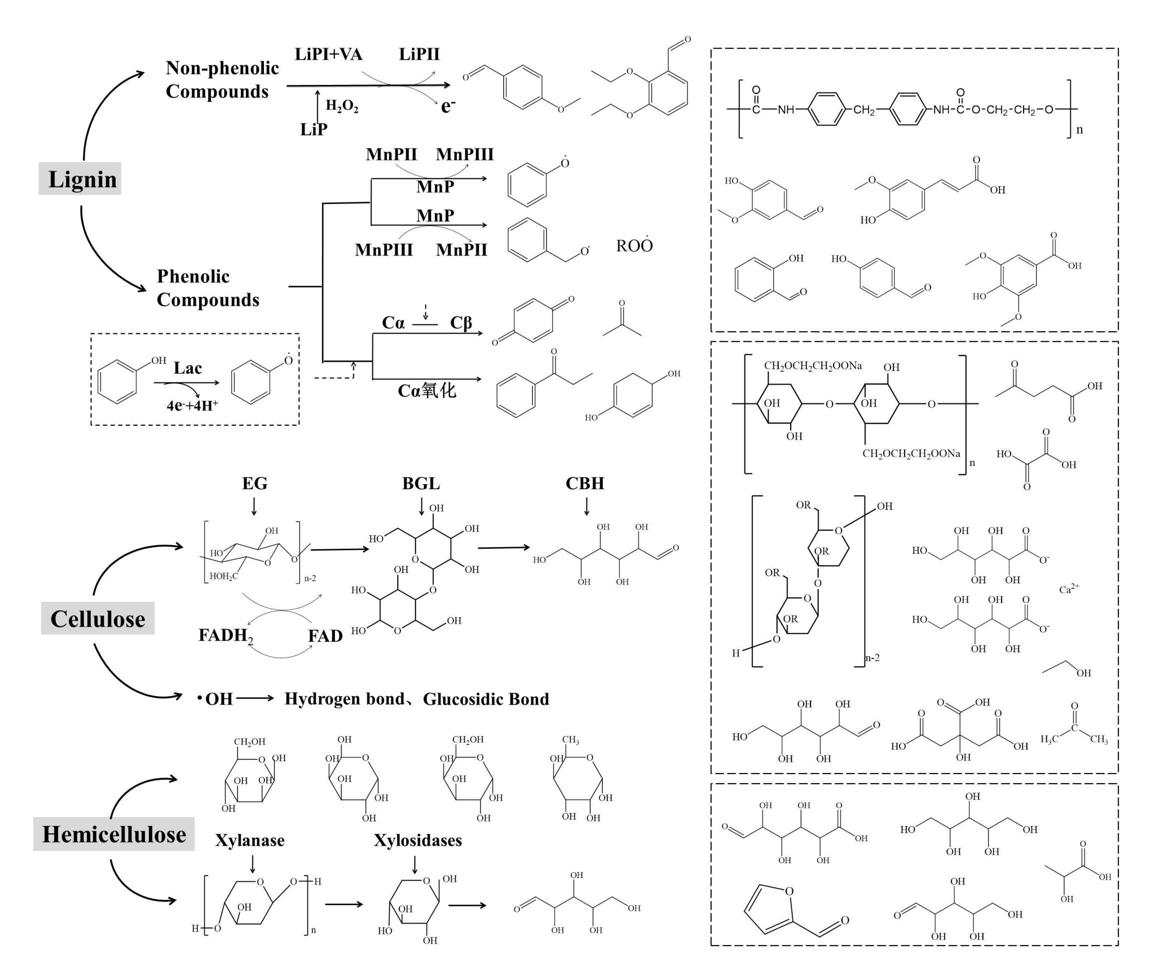


图 1 木质纤维素降解机制

Fig.1 Mechanism of lignocellulose degradation

2.1 生物预处理作用下木质素的转化

木质素结构复杂，通过共价键和氧键与纤维素和半纤维素相互作用，木质素是影响纤维素酶解糖化的关键因素，选择性去除木质素是生物预处理的首要目标。根据作用底物及微生物差异作用周期不同，对于农作物秸秆类物质预处理周期通常为 15-30 天，木质素的降解率达到 30%以上。Saha 等[10]用 *Pycnoporusn sanguineus* 对玉米秸秆预处理 30 天，木质素的降解率达到 51%。Zhao 等[11]用 *Phanerochaete chrysosporium* 处理玉米秸秆 15 天，木质素降解率达到 34.3%。当生物质为木材时，作用周期常超过 60 天。Wang 等[12]用 *Trametes velutina* 处理 *Populus tomentosa* 80 天，木质素最大降解量达到 58%。Nazarpour 等[13]用 *Ceriporiopsis subvermispora*、*T. versicolor* 预处理 *Hevea brasiliensis* 90 天，木质素的降解率分别为 45.06%、44.0%，酶解率达到 27.67%、16.23%。表明生物质木质素含量与类型是影响作用效率的重要因素。添加外源营养物或改变培养条件

可提高木质素降解效率。Zhang 等[14]通过添加麦麸强化 *T. versicolor* 降解木质素效果，相较于对照组降解率提高了 11.3%。Mishra 等[15]通过添加没食子酸、愈创木酚、紫丁香酸强化处理效果，木质素降解率提高 3%，作用周期由 20 天缩短至 12 天。Wan 等[16]考察了不同温度对木质素降解率的影响，结果表明 28℃时 *C. subvermispora* 对木质素降解率最高，可能由于该条件最适菌体生长。

木质素完全降解周期较长，部分研究发现木质素基团修饰或改变，不将其完全去除也可以提高酶解效率。Castoldi 等[17]研究发现 *P. chrysosporium* 和 *Pleurotus ostreatus* 修饰木质素紫丁香和愈创木基团，酶解率达到 47%。Kumar 等[18]发现 *Pandoraea* sp.处理蔗渣后，羟基、甲基、亚甲基、紫丁香及愈创木基团的含量减少。Monrroy 等[19]用褐腐菌 *Gloephylum trabeum* 和 *Laetoporeus sulphureus* 预处理 *Pinus radiata*，木质素含量没有显著变化，酶解率提高了 14%、13%。

2.2 生物预处理对纤维素的作用

纤维素转化为葡萄糖的主要来源，提高纤维素含量是生物预处理的核心。*Lenzites betulina*、*T. ochracea* 处理 *Populust omentosa* 后纤维素含量增加 4%，酶解率提高了 7%[20]。*T. velutina*、*T. pubescens*、*Antrodia wangii* 处理玉米秸杆，纤维素含量分别增加了 3.8%、8.57%、16%[21]。结晶度是影响纤维素酶解的重要因素，部分研究认为预处理后纤维素结晶度与酶解率呈负相关。Isroi 等[7]发现 *P. chrysosporium* 处理后麦秆纤维素结晶度从 44%降至 15%，酶解率相较于未处理组提高 300%。Li 等[22]用 *Wolfiporia cocos* 处理 *P. massoniana* 发现结晶度下降了 24.2%，这为 *W. cocos* 攻击纤维素的结晶区提供了位点，增加了纤维素酶水解可及性。另有研究发现预处理后纤维素结晶度与酶解率呈正相关。Sannigrahi 等[23]用纤维素酶和 BGL 协同处理 *P. taeda* 80 小时，结晶度提高 81%，酶解率也超过 60%。褐腐真菌通过独特的氧化降解体系产生·HO 自由基，断裂纤维素内部或纤维素之间的氢键和糖苷键，暴露纤维素还原性和非还原性末端。褐腐真菌 *Piptoporus betulinus* 能够同时进行纤维素酶发酵与生物质结构破坏，处理后结晶度、产酶量、酶解率三者呈正相关[24]。纤维素含有结晶区和非结晶区，结晶度是结晶区占纤维总体积的百分率。结晶区分子排列整齐、有规则；非结晶区分子排列不整齐、较松弛。预处理破坏半纤维素和木质素等无定型部分，增加结晶度；进一步作用于纤维素结晶区，破坏分子间氢键，降低结晶度。不同微生物预处理

过程不同，结晶度与酶解率相关性也不同，预处理最终都暴露、破坏纤维素结构，使纤维素更易于被纤维素酶水解。

2.3 生物预处理对半纤维素的作用

半纤维素是由多种不同的五碳糖和六碳糖构成的异质多聚体，一方面可降低纤维素水解酶的可及性，构成纤维素酶解屏障；另一方面其水解产物又可作为微生物生长代谢的碳源。半纤维素降解主要发生在预处理早期，后期速率减缓。Saha 等[10]用 *Polyporus compactus* 处理玉米秸秆 30 天时半纤维素降解率达到 52%，酶解率在为 30%左右。Zhi 等[25]用 *P. chrysosporium* 处理稻草秸秆 21 天后，半纤维素降解率达到 31.2%。另有研究认为不破坏半纤维素也可以提高酶解率。Liu 等[26]也发现 *Pycnoporus* sp.可以选择性保留半纤维素的同时提高纤维素酶解率。Bari 等[27]发现 *P. ostreatus* 处理 *Fagus orientalis* 后半纤维素含量基本不变，酶解率显著提高。

2.4 生物预处理对物理结构的作用

预处理破坏生物质表面致密的物理结构是实现生物质高效利用的关键步骤。通过扫描电子显微镜观察发现预处理后的生物质细胞壁塌陷破裂；纤维表面粗糙，出现沉积物、凹凸不平的裂面、球形或非球形突起以及大的裂缝和孔洞；横截面由排列规律类似蜂窝状结构逐渐变得杂乱无序，规律的多孔结构消失[28]。通过原子力显微镜发现酶解后纤维内部结构呈现异质性，晶体纤维和较大的晶粒在无定形纤维素矩阵中分布不规则、完整性消失，纤维底层细胞直接暴露，木质素发生沉积，解除角质层和顽固表皮组织对酶的抵抗力[29]。孔径体积和比表面积均提高，增大酶攻击表面积以及酶水解可及性，有效地提高木质纤维素酶解效率。多种手段表征预处理后生物质均表明致密物理结构遭到破坏。

3 展望

3.1 以生物预处理为核心的组合预处理

针对生物预处理作用周期长的问题，学者们开发出一系列组合预处理技术。Yu 等[30]建立 *P. ostreatus* 和 H_2O_2 组合预技术，纤维破裂更加严重，刚性和有序性显著降低。Wang 等[20]开发 *L. betulina* 耦合高温热水预处理技术，半纤维素降解率提高近 50%，纤维素损失率降低 10%左右，酶解率提高 500%。Zhong 等[31]将 *Irpex lacteus* 与 NaOH 预处理相结合，木质素的降解率达到 36.58%，还原糖产量

提高 288%。Li 等[32]发现蒸汽爆破预处理可以破坏玉米秸秆表面致密结构，促进 *Phellinus baumii* 生长，显著缩短预处理周期。Ma 等[33]研究发现组合预处理可以减少 H_2SO_4 添加量，还原糖产量提高 113%-211%。Balan 等[34]将 *P. ostreatus* 与液氨预浸预处理相结合，酶解率提高 15%。Baba 等[35]建立乙醇耦合 *C. subvermispora* 预处理体系，还原糖产量提高 700%。Kadimaliev 等[36]发现超声波预处理能够改性木质纤维素，促进 *Panus tigrinus* 降解木质素。通常物理、化学预处理先于生物预处理进行，能够破坏木质纤维素致密物理结构，使纤维出现断裂或孔洞，纤维素和半纤维素暴露，使其刚性及有序性降低，为后期微生物作用提供位点，增加水解酶可及性。组合预处理具有良好的应用前景，但其作用条件仍有待进一步优化和研究。

3.2 构建基于不同功能的多酶催化体系

木质纤维素降解是多个酶组分协同作用的结果，根据酶的功能差异构建多酶催化复合体系具有专一性强、作用周期短、抑制物少等优点，是当前研究的重要内容。LiP 协同 Lac 处理玉米秸秆 48 小时，还原糖产量提高 50.2%，有效降低乙酸、糠醛等微生物抑制剂的产生[37]。MnP 协同 Lac 处理小麦秸秆 20 小时，能够促进酶对底物的攻击，减少碳水化合物消耗，提高木质纤维素利用率[38]。Lac 协同纤维素酶处理小麦秸秆 48 小时，纤维素转化率最高达到 84.23%[39]。裂解多糖单加氧酶（Lytic polysaccharide monooxygenases，LPMOs）是新发现能够高效氧化降解生物质多糖的氧化酶，结构核心由类免疫球蛋白的 β 三明治结构域和相邻螺旋束组成，含有一个单核铜离子与两个组氨酸配位的活性位点，通过电子供体提供电子，还原 CuII 为 Cu Ⅰ 并结合活化分子氧，氧化降解多糖链糖苷键[40]。可与纤维二糖脱氢酶（Cellobiosede hydrogenase，CDH）协同作用，高效氧化断裂结晶纤维素的糖苷键并形成新的断点，提高结晶纤维素降解速率及还原糖生成量[41]。LPMOs 能够帮助 CBH 更好发挥作用，改变纤维素结晶区，降低结晶度[42]。MnP 协同 VP 处理玉米秸秆 24 小时，总酚类化合物含量增至 69.6%，Lac、MnP 协同 VP 处理，香兰酸含量增至 44%，纤维素含量增加、结晶度降低[43]。纤维素酶和木聚糖酶协同处理玉米秸秆 90 小时，纤维素酶解率达到 75%，水解速度提高 300%[44]。

3.3 木质纤维素组分分级预利用

生物质组成复杂，只生产单一产品易造成资源利用率低，预处理占总成本比例过高。根据每一种主要组分化学结构特点，分别转化制备不同产品，实现原料充分利用、产品价值最大化。将木质纤维素组分分离是进行高效化、高值化、多元化生物精炼的关键。生物预处理分离组分过程中能够产生高附加值新产品。Zhao 等[45]利用 *C. subvermispora* 预处理城市绿化林废弃物，发现沼气最大产量 44.6 L/kg VS，且产率与木质素降解率呈正相关关系。Camassola 等[46]利用 *P. sajorcaju* 处理甘蔗渣生产纤维素酶和木聚糖酶。纤维素分解为葡萄糖，发酵制备氢气、甲烷、乙烯、乙醇、丙烷、草酸、黄原胶、凝胶剂、热塑涂层、葡萄糖溶液等；半纤维素水解成木糖、阿拉伯糖、果胶糖、半乳糖寡糖，进一步转化生产木糖醇、乳酸、糠醛等；木质素作为芳香类化合物，可以用作混凝土、沥青、聚氨酯泡沫添加剂，以及生产香兰素、芳烃、碳材料、阿魏酸、丁香酸等。相较于化学预处理，生物预处理对组分完全分离选择性弱，提高组分分离效率是生物预处理研究的重要方面。

3.4 建立高效细菌预处理体系

已报道预处理微生物主要集中在真菌，尤其以白腐真菌最多。细菌繁殖速度快、适应能力强，通过腐蚀细胞壁产生通道实现木质素降解。细菌分泌 LiP、阿魏酰酯酶、对香豆酰酯酶等可直接攻击木质素亚基结构氧化 Cα-O、Cβ-Cβ键，具有更高的降解效率。*Fusarium graminearum*、*Sclerotinia sclerotiorum* 能够分泌细胞壁降解酶，对木质纤维素有降解作用[47]。*Streptomyces viridosporus* 作用于草类木质素，降解率可达 19.7 %[48]。*S. griseus* 处理软木和硬木，木质素的分解率分别达到 10.5%和 23.5%[49]。以 *Pseudomonas* sp.为优势细菌的多细菌构成的菌群共同作用于木质纤维素有更好的效果，菌群处理芦苇后木质素和半纤维素降解率为 60.9%和 43.0%，纤维素损失率为 2.0%[50]。*Desulfurococcus fermentans* 表达纤维素酶具有超热稳定性，能够在 81℃分解纤维素[51]。嗜热微生物聚集体 MC1 能够在 95℃对木质纤维素预处理，沼气、甲烷产量明显提高[52]。细菌和菌群预处理技术应用前景广阔，但细菌降解木质素关键酶的调控机制以及代谢网络途径仍未完全阐明，研究报道多处于实验室阶段。Bokinsky 等[53]改造 *Escherichia coli* 基因控制酶基因表达，产生纤维素酶、木聚糖酶等，高效降解纤维素。Ryu 等[54]利用甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因的组成型启动子构建漆酶过表达载体，提高

Polyporus brumalis 漆酶产量、预处理效率。随着基因工程技术的发展，越来越多的菌种进行改良驯化，更好地在木质纤维素生物质预处理过程中发挥作用。生物预处理仍需继续筛选优良菌株，发掘其中高效基因，进一步构建新的工程菌，建立高效细菌预处理体系。

参考文献

[1] 马泽林, 刘家亨, 黄序, 等. 生物利用木质纤维素的研究进展. 中国生物工程杂志, 2017, 37(6): 124-133.

Ma Z L, Liu J H, Huang X, et al. Research progress on utilization of lignocellulosic biomass by microorganisms. China Biotechnology, 2017, 37(6): 124-133.

[2] 刘敬然, 李冠华. 好氧固态发酵的研究现状与展望. 食品与机械, 2016, 32(6): 220-224.

Liu J R, Li G H. Present situation and future prospect of aerobic solid-state fermentation. Food & Machinery, 2016, 32(6): 220-224.

[3] Waksman S A, Cordon T C. Thermophilic decomposition of plant residues incomposts by pure and mixed cultures of microorganisms. Soil Science, 1939, 47 (3): 217-226.

[4] Sindhu R, Binod P, Pandey A. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass–An overview. Bioresource Technology, 2016, 199: 76-82.

[5] Wong D W S. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2009, 157(2): 174-209.

[6] Kumar R, Wyman C E. Effects of cellulase and xylanase enzymes on the deconstruction of solids from pretreatment of poplar by leading technologies. Biotechnology Progress, 2009, 25(2): 302-314.

[7] Isroi, Millati R, Syamsiah S, et al. Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: a review. BioResources, 2011, 6(4): 5224-5259.

[8] Rouches E, Herpoël-Gimbert I, Steyer J P, et al. Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2016, 59: 179-198.

[9] Sánchez C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. Biotechnology Advances, 2009, 27 (2): 185-194.

[10] Saha B C, Qureshi N, Kennedy G J, et al. Biological pretreatment of corn stover with white-rot fungus for improved enzymatic hydrolysis. International Biodeterioration& Biodegradation, 2016, 109: 29-35.

[11] Zhao L, Cao G L, Wang A J, et al. Fungal pretreatment of cornstalk with *Phanerochaete chrysosporium* for enhancing enzymatic saccharification and hydrogen production. Bioresource technology, 2012, 114(3): 365-369.

[12] Wang W, Yuan T Q, Cui B K. Biological pretreatment with white rot fungi and their Co-culture to overcome lignocellulosic recalcitrance for improved enzymatic digestion. BioResources, 2014, 9(3): 3968-3976.

[13] Nazarpour F, Abdullah D K, Abdullah N, et al. Evaluation of biological pretreatment of rubberwood with white rot fungi for enzymatic hydrolysis. Materials, 2013, 6(5): 2059-2073.

[14] Zhang X Y, Xu C Y, Wang H X. Pretreatment of bamboo residues with *Coriolus versicolor* for enzymatic hydrolysis. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2007, 104(2): 149-151.

[15] Mishra V, Jana A K, Jana M M, et al. Fungal pretreatment of sweet sorghum bagasse with supplements: Improvement in lignin degradation, selectivity and enzymatic saccharification. Biotech Biotechnology, 2017, 7(2): 110.

[16] Wan C X, Li Y B. Microbial pretreatment of corn stover with *Ceriporiopsis subvermispora* for enzymatic hydrolysis and ethanol production. Bioresource Technology, 2010, 101(16): 6398-6403.

[17] Castoldi R, Bracht A, Morais G R D, et al. Biological pretreatment of eucalyptus grandis sawdust with white-rot fungi: Study of degradation patterns and saccharification kinetics. Chemical Engineering Journal, 2014, 258 (15): 240-246.

[18] Kumar M, Singhal A, Thakur I S. Comparison of submerged and solid state pretreatment of sugarcane bagasse by *Pandoraea sp. ISTKB*: Enzymatic and structural analysis. Bioresource Technology, 2016, 3: 18-25.

[19] Monrroy M, Ortega I, Ramírez M, et al. Structural change in wood by brown rot fungi and effect on enzymatic hydrolysis. Enzyme and Microbial Technology, 2011, 49 (5): 472-477.

[20] Wang W, Yuan T Q, Wang K, et al. Combination of biological pretreatment with liquid hot water pretreatment to enhance enzymatic hydrolysis of *Populust omentosa*. Bioresource Technology, 2012, 107(3): 282-286.

[21] Wu X J, An Q, Dai Y C, et al. Investigating lignocellulose in cornstalk pretreated with *Tramete spubescens Cui 7571* to improve enzymatic saccharification. BioResources, 2016, 11(1): 2768-2783.

[22] Li G Y, Huang L H, Hse C Y, et al. Chemical compositions, infrared spectroscopy, and X-ray diffractometry study on brown-rotted woods. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(3): 560-564.

[23] Sannigrahi P, Miller S J, Ragauskas A J. Effects of organosolv pretreatment and enzymatic hydrolysis on cellulose structure and crystallinity in Loblolly pine. Carbohydrate Research, 2010, 345(7): 965-970.

[24] 李冠华，邵小涵，苑琳．桦剥管孔菌固态发酵纤维素酶及发酵基质酶解．纤维素科学与技术, 2016, 24: 19-24.

Li G H, Shao X H, Yuan L. Integrative process for enzymatic hydrolysis employing SSF produced cellulase by *Piptoporus betulinus*. Journal of Cellulose Science and Technology, 2016, 24: 19-24.

[25] Zhi Z L, Wang H. White-rot fungal pretreatment of wheat straw with *Phanerochaete chrysosporium* for biohydrogen production: Simultaneous saccharification and fermentation. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2014, 37(7): 1447-1458.

[26] Liu J, Wang M L, Tonnis B, et al. Fungal pretreatment of switchgrass for improved saccharification and simultaneous enzyme production. Bioresource technology, 2013, 135(2): 39-45.

[27] Bari E, Nazarnezhad N, Kazemi S M, et al. Comparison between degradation capabilities of the white rot fungi *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* in beech wood. International Biodeterioration & Biodegradation, 2015, 104:

231-237.

[28] Travaini R, Martín-Juárez J, Lorenzo-Hernando A, et al. Ozonolysis: An advantages pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. Bioresource Technology, 2016, 199: 2-12 .

[29] Eibinger M, Bubner P, Ganner T, et al. Surface structural dynamics of enzymatic cellulose degradation, revealed by combined kinetic and atomic force microscopy studies. The FEBS Journal, 2014, 218(1): 275-290.

[30] Yu J, Zhang J B, He J, et al. Combinations of mild physical or chemical pretreatment with biological pretreatment for enzymatic hydrolysis of rice hull. Bioresource Technology, 2009, 100(2): 903-908.

[31] Zhong W X, Yu H B, Song L L, et al. Combined pretreatment with white-rot fungus and alkaliat near room-temperature for improving saccharification of corn stalks. BioResources, 2011, 6(3): 3440-3451.

[32] Li G H, Chen H Z. Synergistic mechanism of steam explosion combined with fungal treatment by *Phellinus baumii* for the pretreatment of corn stalk. Biomass and Bioenergy, 2014, 67:1-7.

[33] Ma F Y, Yang N, Xu C Y, et al. Combination of biological pretreatment with mild acid pretreatment for enzymatic hydrolysis and ethanol production from water hyacinth. Bioresource Technology, 2010, 101(24): 9600-9604.

[34] Balan V, Da C S L, Chundawat S P, et al. Mushroom spent straw: a potential substrate for an ethanol-based biorefinery. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2008, 35(5):293-301.

[35] Baba Y, Tanabe T, Shirai N, et al. Pretreatment of Japanese cedar wood by white rot fungi and ethanolysis for bioethanol production. Biomass & Bioenergy, 2011, 35(1):320-324.

[36] Kadimaliev D A, Revin V V, Atykian N A, et al. Effect of wood modification on lignin consumption and synthesis of lignolytic enzymes by the fungus *Panus (Lentinus) tigrinus*. Applied Biochemistry & Microbiology, 2003, 39(5):488-492.

[37] Wang F Q, Xie H, Chen W, et al. Biological pretreatment of corn stover with ligninolytic enzyme for high efficient enzymatic hydrolysis. Bioresource

Technology, 2013, 144: 572-578.

[38] Rodrigues M A M, Pinto P, Bezerra R M F, et al. Effect of enzyme extracts isolated from white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of wheat straw. Animal Feed Science and Technology, 2008, 141(3-4): 326-338.

[39] Qiu W H, Chen H Z. Enhanced the enzymatic hydrolysis efficiency of wheat straw after combined steam explosion and laccase pretreatment. Bioresource Technology, 2012, 118(4): 8-12.

[40] Hemsworth G R, Taylor E J, Kim R Q, et al. The copper active site of CBM33 polysaccharide oxygenases. Journal of the American Chemical Society, 2013, 135(16):6069-6077.

[41] Langston J A, Shaghasi T, Abbate E, et al. Oxidoreductive cellulose depolymerization by the enzymes cellobiose dehydrogenase and glycoside hydrolase 61. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(19): 7007-7015.

[42] Vermaas J V, Payne C M, Crowley M F, et al. Effects of lytic polysaccharide monooxygenase oxidation on cellulose structure and binding of oxidized cellulose oligomers to cellulases. Journal of Physical Chemistry B, 2013, 104(2):6129-6143.

[43] Schroyen M, Vervaeren H, Van Hulle S W H, et al. Impact of enzymatic pretreatment on corn stover degradation and biogas production. Bioresource Technology, 2014, 173: 59-66.

[44] Hu J, Arantes V, Saddler J N. The enhancement of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates by the addition of accessory enzymes such as xylanase: is it an additive or synergistic effect?. Biotechnology for Biofuels, 2011, 4(1):36.

[45] Zhao J, Zheng Y, Li Y B. Fungal pretreatment of yard trimmings for enhancement of methane yield from solid-state anaerobic digestion. Bioresource Technology, 2014, 156:176-181.

[46] Camassola M, Dillon A J P. Biological pretreatment of sugar cane bagasse for the production of cellulases and xylanases by *Penicillium echinulatum*. Industrial Crops & Products, 2009, 29(2–3):642-647.

[47] Gibson D M, King B C, Hayes M L, et al. Plant pathogens as a source of diverse enzymes for lignocellulose digestion. Current Opinion in Microbiology, 2011, 14(3):264-270.

[48] Masai E, Katayama Y, Fukuda M. Genetic and biochemical investigations on bacterial catabolic pathways for lignin-derived aromatic compounds. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2007, 71(1): 1-15.

[49] Saritha M, Arora A, Lata. Biological pretreatment of lignocellulosic substrates for enhanced delignification and enzymatic digestibility. Indian Journal of Microbiology, 2012, 52(2): 122-130.

[50] Wang Y X, Liu Q, Yan L, et al. A novel lignin degradation bacterial consortium for efficient pulping. Bioresource Technology, 2013, 139(7): 113-119.

[51] Graham J E, Clark M E, Nadler D C, et al. Identification and characterization of a multidomain hyperthermophilic cellulase from an archaeal enrichment. Nature Communications, 2011, 2(1): 375.

[52] Yuan X F, Wen B T, Ma X G, et al. Enhancing the anaerobic digestion of lignocellulose of municipal solid waste using a microbial pretreatment method. Bioresource Technology, 2014, 154(1):1.

[53] Bokinsky G, Peraltayahya P P, George A, et al. Synthesis of three advanced biofuels from ionic liquid-pretreated switchgrass using engineered *Escherichia coli*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(50):19949-19954.

[54] Ryu S H, Cho M K, Kim M, et al. Enhanced lignin biodegradation by a laccase-overexpressed white-rot fungus *Polyporus brumalis* in the pretreatment of wood chips. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2013, 171(6):1525-1534.